

マイクロ流路型バイオ燃料電池の開発

都甲 真, 梶 弘和, 安部 隆, 西澤 松彦*

工学研究科 バイオロボティクス専攻
バイオマイクロマシン工学講座 教授
E-mail: nishizawa@biomems.mech.tohoku.ac.jp



1. はじめに

酵素を電極触媒として用いるバイオ燃料電池は、その触媒の特徴より、安全かつ安価といった他の電源に見られない利点を有す。さらに酵素触媒の反応選択性の高さから従来の電池で必要とされてきた隔膜を必要としないため、図1に示すように燃料極、酸素極の二本の電極のみで電池を構成でき、電池の超小型化が容易である。また触媒の高い反応選択性は、糖やアルコールなどの燃料を含む純度の低い混合燃料溶液（ジュース、お酒、血液など）からの発電をも可能にする。以上のような利点より、バイオ燃料電池は使い捨てもしくは携帯式の小型電源、さらには体内埋め込み式の小型電源として注目されており活発に研究が進められている [1-19]。

一方バイオ燃料電池の抱える問題点は、現存する電池に比べ出力電力やその耐久性が低いことにある。昨今様々な研究者らの尽力により、特に出力電流に関して劇的な向上を遂げている。現在、電極材料や酵素触媒の固定化方法の検討により、ブドウ糖や果糖を燃料とする燃料極、及び酸素を酸化剤として用いる酸素極ともに 10 mA cm^{-2} 程度の電流を取り出せるまでに至っている。また、電極の耐久性に関しても酵素のスクリーニングや遺伝子改良、電極への固定化方法の検討により、比較的高い安定性を示すものが報告されて始めている。

電極、触媒材料や固定化方法で改良できる以上の二点と異なり、出力電圧に関しては、その理論値が燃料と酸化剤の選択により熱力学的に決定されるため、糖やアルコールを燃料とし酸素を酸化剤とするような燃料電池では単セルで 1 V を大きく超える電圧を望むことはできない。よって、それ以上の電圧が要求されるケースにおいては、既存の燃料電池のようにセルのスタッキングなどといった構造的手法によって電圧を稼ぐ必要がある。ここで溶液から燃料を取り出すバイオ燃料電池で

は、従来式の燃料電池と異なりスタッキングが容易ではなく、各セル間がショートしないように（各セル間のイオン伝導を遮断するために）、各セル間に物理的な壁や電動式バルブを配置してそれぞれの溶液を隔離せねばならない。しかしこれらの機構を組み込むことは、使いやすく安価な小型電池の開発といった観点から実際的ではないため、一度の送液で燃料を補充でき、外力を利用せずに溶液を分断する簡素なシステムが必要であることが考えられる。

本研究において我々は、セル間の溶液を分断させるための自動バルブとして空気を用いることで、バイオ燃料電池を一つの流路中に直列化することができないかと考えた。作製した小型直列バイオ燃料電池の模式図を図2に示す。各セル間には水を強くはじく超撥水領域を設けることで、空気によりセル間の溶液を分断することを目的とした。本研究において重要な役割を担うこの超撥水表面は、自然界で超撥水表面として知られている蓮の葉の表面構造を微細加工により模倣することにより作製した。このような蓮の葉の表面を模倣した表面については様々な研究者が報告しているが [20-26]、我々はフォトリソグラフィ法や反応性

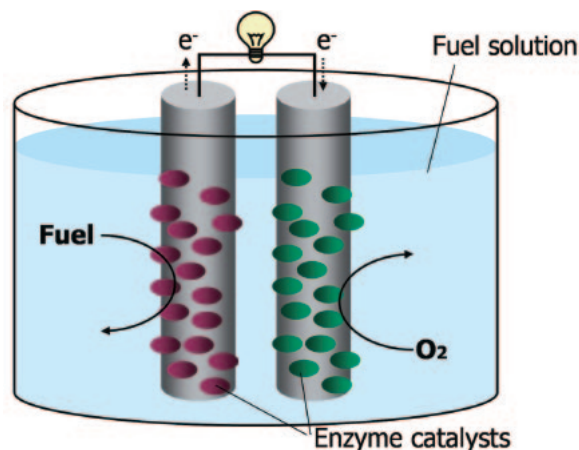


図1. Illustration of biofuel cell.

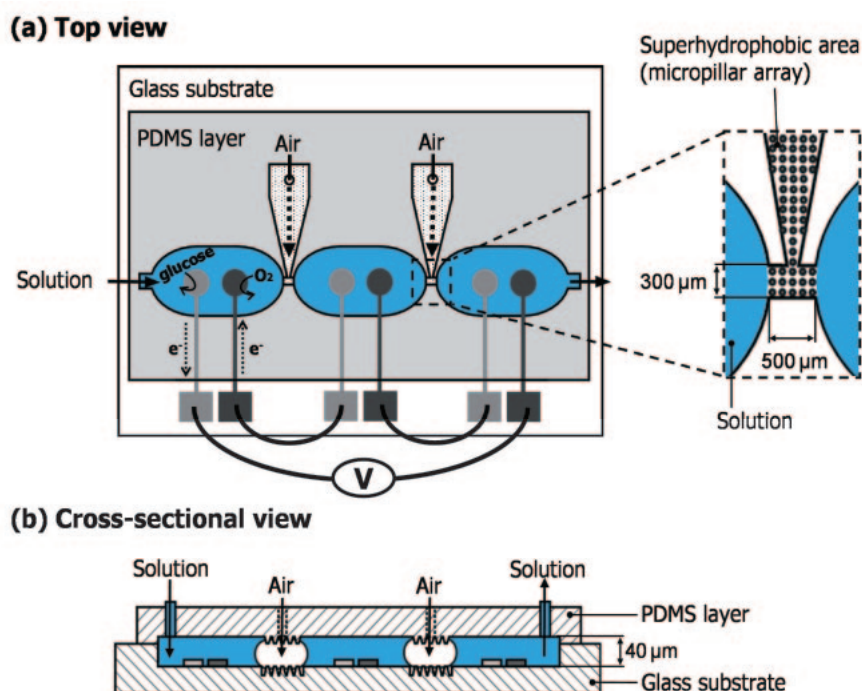


図 2. (a) Top view and (b) cross-sectional view of series-connected biofuel cells on a fluidic chip. Inset shows a close-up top view of the valve area.

イオンエッチング法により、微細な凹凸構造を流路中の各セル間作製することにより実現した。

本報告では作製した超撥水表面の評価、またその超撥水表面を組み込んだマイクロ流路の作製手法の確立、自動バルブとしての基礎特性、及び自動バルブを作動させたときの小型直列バイオ燃料電池の出力応答について評価した。

2. 実験

2.1 マイクロ流路セルの概要

本研究では一度の送液操作によりすべての電池セルに燃料を満たし、空気によって半自動的にセル間の溶液を分断することを目的に、図 2 に示すようなマイクロ流路セルを作製した。各セル間には微細加工により超撥水表面を作製し、溶液をはじきやすく、空気をためやすい領域（空気バルブ部）を設けた。また、その空気バルブ部分の一部に空気孔を開けることで空気の導入口を作った。また超撥水表面を有すマイクロ流路によって結合した三つのセル内には、それぞれ一対のバイオ燃料電池用電極（燃料極と酸素極）を配置し、それぞれの電極は外部で電気的に直列に接続した。

2.2 マイクロ流路セルの作製法

図 2 に示すように、流路セルの下層にはパイレックスガラスを加工し、流路、超撥水領域および電極を作製したものを用いた。なおその簡略化した作製手順を図 3 に示す。また、流路上層には超撥水領域を有す PDMS 流路を用いた。PDMS 流路はガラスを微細加工し、それを鋳型として PDMS に転写することにより作製した。以下それぞれの作製方法について記す。

2.2.1 流路下層の作製法

- パイレックスガラス(25×25 mm)を洗浄した後、スパッタリングにて Cr / Au (200 nm / 500 nm)を両面に被膜する (図 3 (a))。
- 両面にフォトリソグレイス(OFPR-800LB 200cp)をスピンコートする。片面のみ露光、現像することで流路形状をパターンニングした後に、Au / Cr を各々のエッチャントによりエッチングする (図 3 (b))。
- パターンニングした Au/Cr をマスクとして、HF (49 %)を用いたウェットエッチングによってガラスを流路形状に加工した。なお流路深さが深すぎると、後の工程が困難であったため流路高さは 40 μm とした。次に、レジストを剥離液

(MS2001)によって剥離した後に、Au / Crを各々のエッチャントにより剥離する (図 3 (c)) .

- (D) 流路形状に加工したガラス基板に再度スパッタリングにより、Au / Cr (200 nm / 1200 nm)を被膜する．ネガフォトレジスト(OMR83 60cp)をスピコートし、露光、現像することでバルブ部の形状をパターンニングし、Au/Cr を各々のエッチャントによりエッチングする．続いてレジストを剥離液 (502A) によって剥離する．バルブ部以外の表面保護のため、めっきで Ni (500 nm)を被膜することで、流路及び基板の接合面を平滑にすることができた (図 3 (d)) .
- (E) パターンニングした Au / Cr をマスクとして反応性イオンエッチングを施し、流路のバルブ部に

微小突起を形成した．ここで、エッチングガスには SF_6 (1 m Torr) と Xe (1 m Torr) の混合ガスを用い、バイアス電圧は-390 V に設定した [27]. エッチング後 Ni については硫酸加水により、Au / Cr は各々のエッチャントにより剥離した (図 3 (e)) .

- (F) 作製した基板を洗浄、 O_2 アッシング (1.5 min, 130 W) した後に、3-メタクロキシプロピルトリメトキシシラン (信越化学工業) によりシラン化処理を施し、CVD 法によりジクロロパラキシリレン (diXC, 第三化成) (150 ~ 180 nm) を蒸着した．ここでパリレンの蒸着は、親水性のガラス表面を化学的に疎水化する目的で行った．また CVD で蒸着することにより、微細な構造体表面にも均一に薄膜を作製できる．続いてフォトレジスト (AZP4620) をスピコートし、露光、現像することでバルブ領域のみにレジストを残す．それをマスクとし O_2 RIE, または O_2 アッシャーによりバルブ外部のパリレンをエッチングした (図 3 (f)) .
- (G) フォトレジスト (AZP4620) をスピコートし、露光、現像することでバイオ燃料電池用の電極形状をパターンニングし、Au / Pt / Ti (480 nm / 80 nm / 30 nm) をスパッタリングした後に、アセトンでリフトオフし、流路基板上に電極を作製した．

(a) Cr/Au deposition



(b) Cr/Au patterning



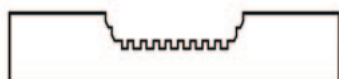
(c) Glass etching and Cr/Au removal



(d) Cr/Au deposition and patterning



(e) Glass etching using RIE



(f) Parylene deposition

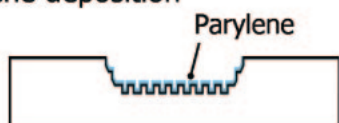


図 3. Fabrication process flow for the glass

2. 2. 2 流路上層の作製法

- (A) パイレックスガラスを洗浄し、スパッタリングにて Au / Ti (150 nm / 50 nm)を被膜する．
- (B) フォトレジスト (PMER P-LA900PM) をスピコートした後、露光、現像することで流路形状および凹凸構造を含んだ形状をパターンニングする．
- (C) O_2 アッシャーにかけた後に、めっきにより Ni (3000 nm)を流路部分、凹凸形状部分に被膜する．
- (D) アセトンでレジストを剥離させた後に、 O_2 アッシャーにかける．
- (E) 反応性イオンエッチング法で流路形状および凹凸形状をガラス基板に転写する．
- (F) 最後に、基板を洗浄し、PDMS に転写する．PDMS (polydimethylsiloxane) は PDMS プレポリマーと PDMS 硬化剤を重量比 10:1 で混ぜ合わせ、十分に脱気したものを鋳型に流し込んだ後に、70°Cオープンで 1.5 h 加熱硬化させた後に鋳型から引き剥がし使用する．

2.3 酵素修飾電極の作製法

燃料極の触媒としては、黒色麹菌由来の glucose oxidase (GOD) (Wako)を用い、酸素極用の酵素にはミロセシウム属菌由来の bilirubin oxidase (BOD) (Amano)を用い、それぞれ購入したものを未精製のまま使用した。ここで、GOD はグルコースを酸化する酵素として非常に一般的であり、市販の血糖値センサー用によく使用されているものである。また高い安定性を有することで知られている。BOD は中性溶液下においても酸素の 4 電子還元を行える銅タンパクであり、バイオ燃料電池のカソード用酵素として有望視されている。また Poly(ethylene-glycol)diglycidyl ether (PEGDGE, Mn520) (Aldrich) (図 4 (c)) は酵素とポリマーの架橋剤として用いた。電子メディエータ修飾ポリマ

ーとして用いた、Poly(1-vinylpyridine) complexed with Os(4,4'-dimethyl-2,2'-bipyridine)₂Cl (PVI-Os) (図 4 (b,左)) および Poly(4-vinylpyridine) complexed with Os(2,2'-bipyridine)₂Cl and quaternized with bromoethyl amine (PVP-Os) (図 4 (b,右)) はそれぞれ第一化学薬品(株)より提供していただいたものを用いた。

本研究に用いた燃料極の作製法は以下の方法で行う。5 μ L の PVI-Os 溶液 (25 mg / mL), 2 μ L の GOD 溶液 (20 mg / mL), 及び 1.2 μ L の PEGDGE 溶液 (2.5 mg / mL)をよく混合した後、その 0.5 μ L を Au 電極 (直径 1 mm)に滴下し 12 h 程度室温で乾燥させた後に測定を行った。酸素極についても同様に、5 μ L の PVP-Os 溶液(25 mg / mL), 2 μ L の BOD 溶液 (20 mg / mL), 1.2 μ L の PEGDGE 溶液 (2.5 mg / mL)を混合し、その 0.5 μ L を Au 電極 (直径 1 mm)に滴下し 12 h 程度乾燥させた後に測定に用いた [4]。

酵素膜の乾燥過程において、PEGDGE が両端に有すエポキシ基が、水溶性のポリマーや酵素の有すアミノ基、もしくはイミダゾール基同士と反応し架橋構造を作ることにより、水に不溶なハイドロゲル状の酵素触媒薄膜を形成する。また、このようにして作製した酵素膜は燃料極、酸素極において、それぞれ以下のような反応を触媒する。



GOD にてグルコースを酸化することで得られた電子は、電子メディエータであるオスミウム錯体を介して、電極へ受け渡され、外部回路を通過した後、酸素極にてオスミウム錯体、BOD を介し酸素へと受け渡される (図 4 (a))。このようにして、本研究ではグルコース／酸素型のバイオ燃料電池とした。

2.4 測定法

作製した材料表面の撥水性は 1 μ L の液滴を用いた液滴の見た目の接触角 (θ_c) を測定することにより評価した。液滴の接触角は 180° に近いものほど材料表面の高い撥水性を示しており、一般に接触角が 90° を超えるものを撥水性表面、150° を超えるものを超撥水性表面と呼ぶ。また各表面における接触角の結果は、基板表面の異なる三箇所測定し、それらのデータを平均したものをプロットした。また、特に断らない限り蒸留水を液滴として用いた。

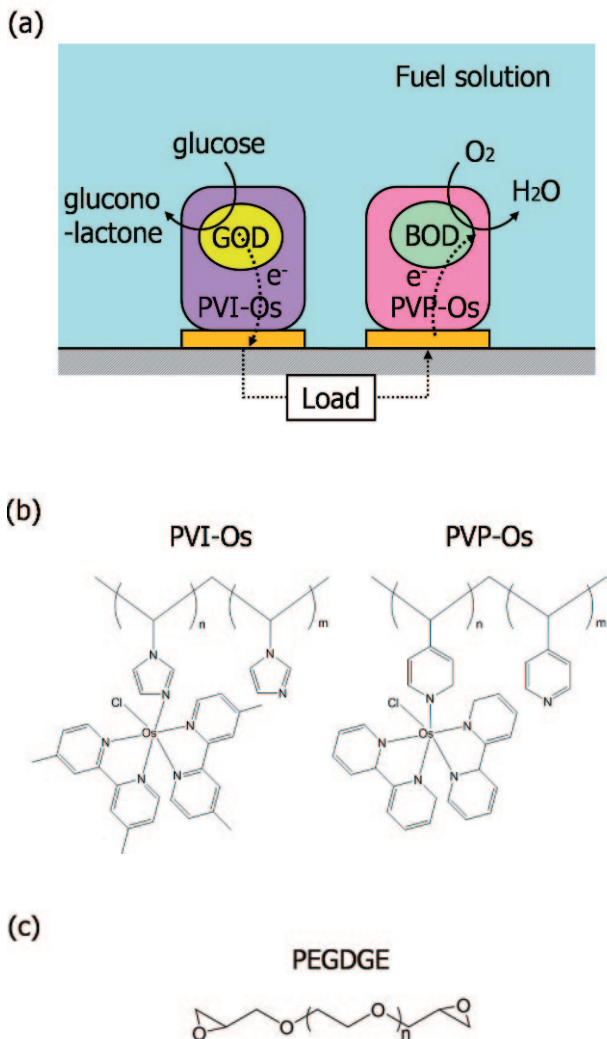


図 4. (a) Structure of the electrodes, (b) chemical structures of Os-polymers and (c) chemical structure of PEGDGE.

マイクロ流路セルの使用の際には、上層と下層をアライメントし接着させた後、マイクロシリンジ、マイクロシリンジポンプを接続し、一定の流量で流路内に送液した。空気バルブの評価は、送液操作に伴う空気バルブ部（超撥水領域）の溶液や空気の挙動をデジタルマイクロスコープ(KH-3000, Hirox)にて観測することにより行った。

直列化マイクロバイオ燃料電池の評価の際には、室温の 0.1 M グルコース及び 0.1 M NaCl を含む 50 mM リン酸緩衝液(pH 7)を燃料溶液として用いた。燃料の送液はシリンジポンプにより行い、 $5 \mu\text{L min}^{-1}$ の流量に設定した。また、バイオ燃料電池の電極はそれぞれ直列となるように電気配線し、両端の電極の電圧差を電気化学測定装置 (Model 600S, BAS) の開回路電圧測定モードにて測定した。なお、測定中は上と同様にデジタルマイクロスコープ(KH-3000, Hirox)にて、空気バルブ部（超撥水領域）の溶液および空気の挙動を観測した。

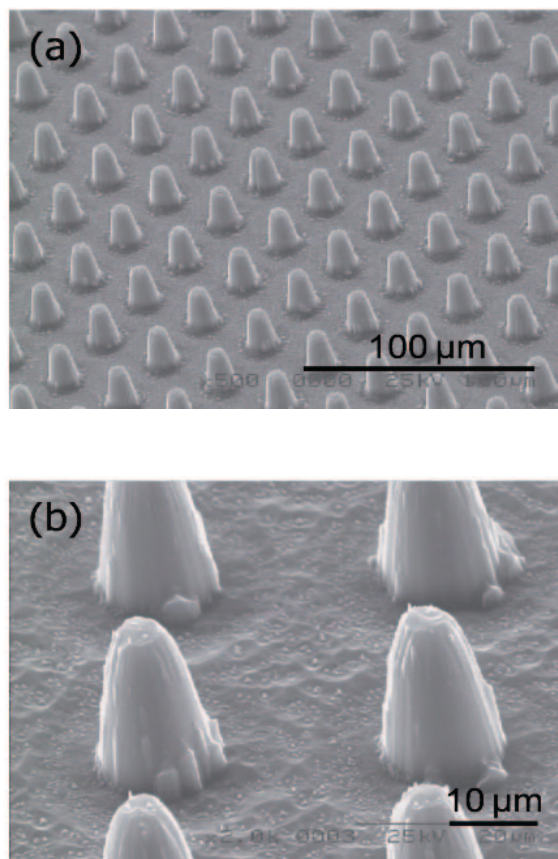


図 5. (a) Low- and (b) high- magnification SEM images of the array of the 20 μm long, 15 μm diameter, 15 μm spaced micropillars.

3. 結果

3.1 超撥水表面の評価

図 5 に作製した微細凹凸構造の SEM 画像を示す。写真から見て取れるように、本研究にて確立した手法にて正方配列させた微小突起アレイを基板上に作製することができた（突起高さ: 20 μm ，突起直径: 15 μm ，突起間距離: 15 μm ）。なお微小突起の形状は、RIE の際にマスクとなるパターンニングされた Au / Cr 薄膜自体のエッチングや、Au / Cr マスクにおけるイオンの反射によって、突起上部でのエッチングが進んだため、傾斜がつき円錐状になった [27]。なおこのように円錐状となることで、PDMS の鋳型として用いるときに、PDMS を鋳型から引き剥がしやすいという利点も得られている。

作製した凹凸構造の撥水性は 1 μL の液滴を用いた液滴の見た目の接触角 (θ_c) により評価した (図 6)。図 6 の(a)-(c)はそれぞれ、(a) 平滑なガラス、(b) パリレン薄膜を被覆したガラス、および(c) パリレン薄膜を被覆した微細突起上の液滴を示している。写真から明らかなように、(a)から(b)では親水性のガラス表面に疎水性のパリレンを被膜したことによる表面の化学的な状態により、(b)から(c)では表面を平滑なものから微細構造を組み込むといった表面の幾何構造により、見た目の接触角が向上することが確認できた。以上のことより、超撥水表面の実現のためには、表面が化学的に疎水性の微小構造体を作ることが有効であることがわかった。

以下、微小突起パターンと撥水性について検討した。Fig.6 の(d)-(e)は、(d) 突起直径、(e) 突起間距離（設計値）を変えた際の接触角の値をプロットしたものである。なお突起高さは 20 μm 程度で一定とした。グラフに示すように、接触角の最大値は突起直径: 15 μm ，突起間距離: 15 μm のときに現れた。

化学的に疎水性を示す微細な凹凸表面上では、凹凸構造内に液滴が入り込めずに、液滴－構造体－空気の三相界面が現れる。ここで空気に対する水の接触角は 180° であるため、構造体表面での見た目の液滴の接触角の上昇に大きく寄与するものと考えられている。このような状況下における表面上の見た目の接触角を見積もるために、変形した Cassie-Baxter 式(1)が通常適用される [21-26]。

$$\cos \theta_c = f(1 + \cos \theta) - 1 \quad (1)$$

ここで、 f は固体の表面割合を θ は平滑な材料上での固有の接触角を示している。この式(1)は f が小さくなるほど、つまり突起直径は小さく突起間隔が広がるほど、突起内空間に空気を溜め込むことができるため、大きな θ_c が得られることを示している。しかしながら実際的には、 f が小さくなりすぎると突起内空間に液滴が侵入し始めるため、結果としてあるところを境に θ_c が小さくなってしまふ。これは図 6 の(d)-(e)で得られた結果において、ピーク値が現れたことを説明しているものと考えられる。よって、ピーク値より f の小さな範囲においては、液滴に対して微小突起間空間が広すぎたために液滴が侵入し始めたものと考えられる。

また、PDMS で作製した微小突起アレイに関しても同様の実験を行った。そこでもガラスの場合

と同様に、接触角の最大値は突起直径: 15 μm 、突起間距離: 15 μm のときに現れ、そのときの接触角は 170° 程度と非常に大きなものが得られた。平滑な PDMS とパリレン薄膜で被覆したガラス表面における液滴の接触角が 100° 程度と同等であるにもかかわらず、PDMS で作製した微小突起の方が大きな接触角を示した理由についてはわかっていないが、PDMS の機械的な特性などが撥水性に寄与しているのではないかと推測している [28]。

以上の接触角評価実験は蒸留水を液滴として用いたものだったが、0.1 M のグルコースを含む緩衝液を用いた実験においても、微細突起（突起高さ: 20 μm 、突起直径: 15 μm 、突起間距離: 15 μm ）を作製した表面は、蒸留水を用いた場合と同程度の高い撥水性を示した。これらの結果より、本実験で確立した手法にて作製した材料表面は、燃料溶液に対しても超撥水性を示すものとすることができたといえる。

3.2 空気バルブと直列化マイクロバイオ燃料電池の性能評価

上層（PDMS 層）と下層（ガラス層）を接合させ、図 2 に示すようなマイクロ流路セルを作製した。PDMS 流路の両端にはドリルで穴をあけ、ステンレスのコネクタ、ポリエチレンチューブをそれぞれつないだ。インレット側には溶液の送液のためマイクロシリンジをつなぎ、マイクロシリンジポンプにて調整しながら溶液を押し出すことで一定流量の送液を行った。ここで溶液を流している状態、及び送液を止めた際の超撥水領域の溶液、空気の挙動を観測した。

図 7 には各送液操作時のバルブ部（超撥水領域）の顕微鏡写真を示す。ここで図 7 (b) に示されるように、超撥水領域は燃料溶液の送液中においても、溶液に完全に満たされないことがあることがわかった。このような状態というのは、この超撥水領域の高い撥水性に起因するものと考えられ、図 7 (b) の下の模式図に示すように、燃料溶液が非常に細かな水滴として超撥水領域を通過している状態であることが推測される。さらにそのような場合においては、溶液が連続的に繋がっていないため、セル間のイオン伝導を遮断することができる。送液を完全に停止させた図 7 (c)の状態では、セル間の溶液が完全に分断されている様子が見て取れた。このように、セル間に超撥水处理を施したマイクロ流路を配置することで、空気によるセル間の溶液の分離が可能であることがわかった。

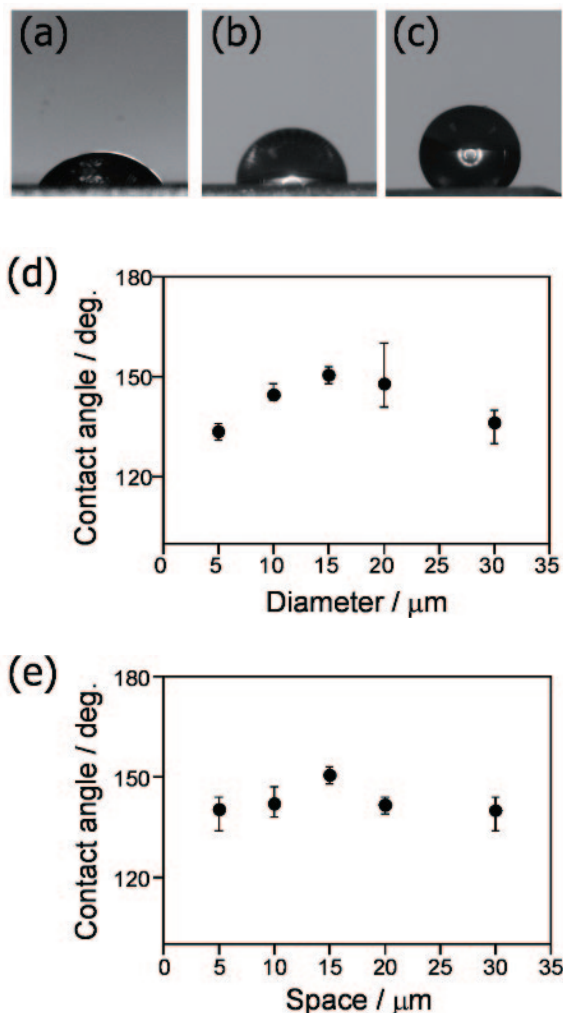


図 6. Photographs of a water droplet on (a) a flat glass substrate, (b) a parylene-coated flat glass, (c) the parylene-coated micropillar array. The value of the water contact angle on the parylene-coated micropillar arrays were plotted as a function of (d) pillar diameter and (e) their spacing.

次に、送液速度を変え空気バルブの機能进行评估したところ、 $1 \sim 10 \mu\text{L min}^{-1}$ の条件下で空気バルブがよく作動することがわかった。しかしながらそれ以上の送液速度では、送液の圧力が強すぎるために溶液がバルブ部や空気のリザーバー部にまで侵入してしまい、送液を止めた際にもバルブ部が空気で満たされない状態が頻出した。よって以下の実験では送液速度を $5 \mu\text{L min}^{-1}$ に設定した。

さらに流路高さを変化させた際の空気バルブの挙動についても評価したところ、最も流路高さの低い $40 \mu\text{m}$ の条件下でよい応答が得られた。これは流路高さを低くすることで、空気バルブ部における体積当たりの表面積が大きくなり、表面の影響をより効果的に与えることができるためではないかと考えられる。

また、この送液—溶液分断の操作を繰り返したところ、蒸留水を溶液に用いた場合では 5 回程度の繰り返し操作が可能であることを確認した。同様の測定についてグルコース溶液を用いて行ったところ、3 回程度の繰り返し操作であれば可能であった。材料の撥水性をより高めることで、空気バルブの耐久性を向上させることができるものと考えられる。

以上のことから送液速度を $5 \mu\text{L min}^{-1}$ としたうえで、流路高さ $40 \mu\text{m}$ のセルを用いることとした。さらにセル内に配置した電極にそれぞれバイオ燃料電池用の酵素膜を修飾し、空気バルブを作動させた際の直列化マイクロバイオ燃料電池の出力電圧応答を評価した。図 2 に示すように、このセルは三対の酵素膜修飾した負極／正極を有したグルコース／酸素電池を搭載している。まず単セルの出力性能について個別に評価したところ、単セル辺りの最大電圧は 0.35 V 、最大電流密度は 0.2 mA cm^{-2} 、最大電力密度は 0.02 mW cm^{-2} であることがわかった（流速: $5 \mu\text{L min}^{-1}$ ）。ここで、最大電流密度については報告値 [4] よりも小さなものとなったが、これは今回作製したバイオ燃料電池の最大電流の律速因子が酸素の供給であり、我々の測定溶液中の酸素濃度が報告されたものよりも低いことが原因であると考えられる（報告されているものは 1 atm O_2 下にて測定を行っているが、我々の実験は 1 atm 空気下）。

次に、この直列化バイオ燃料電池が実現可能性を示すため、我々は図 8 (b) に示すような電気配線を施した全セルの出力電圧を測定した。図 8 (a) はそこで得られた結果であり、矢印は送液を開始、終了した時刻を示している。0.1 M グルコースの燃

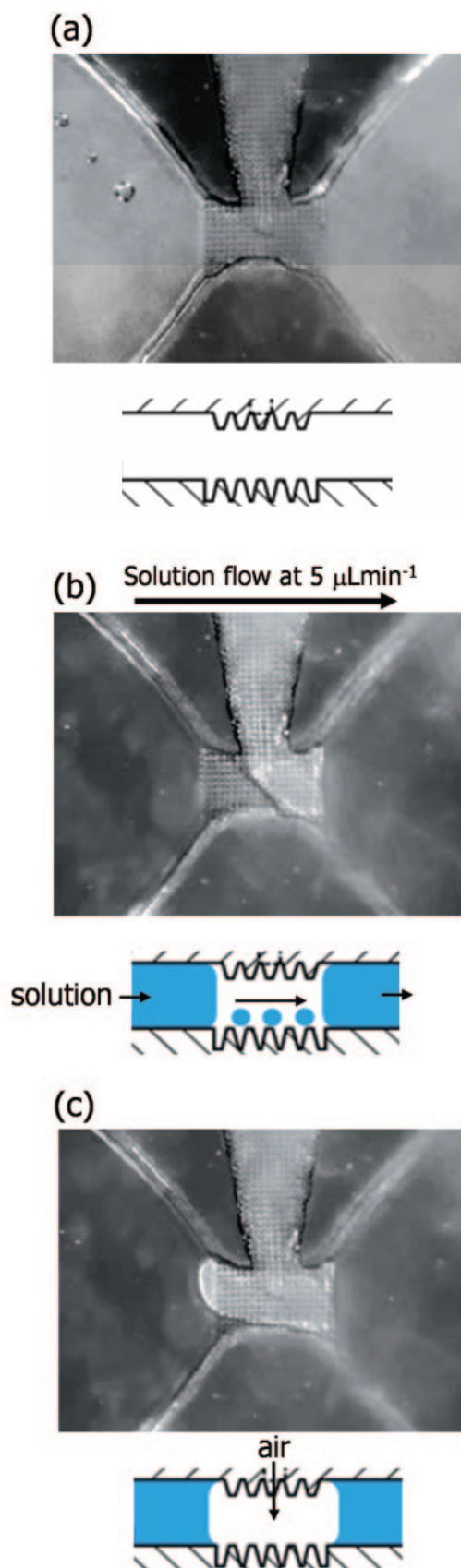


図 7. Photograph of the valve area (top) and a cross-sectional illustration of the fluidic channel (bottom) before introducing solution (a), during solution flow (b), and after stopping the flow (c).

料を含んだ溶液は時刻 0 にて $5 \mu\text{L min}^{-1}$ の流量で送液し始め、数分で溶液はセル内に満たされた。送液中の出力電圧は 0.65 V 程度であり、単セルで得られた値のおおよそ 2 倍程度であった。この結果は送液中であっても、二つのバルブの内の一つが閉じている（バルブ部に溶液が満たされておらずイオン伝導は遮断されている）状態だったのではないかと推察される。この際図 7 (b) に示したように、溶液が小さな水滴となってバルブ上を通過しているのではないかと考えている。ここで、送液を止めると同時に電圧が 1 V 程度にまで上昇した。これは空気バルブが二つとも作動し、三つのセルが直列化したことを示唆している。

このようにして、空気バルブを搭載した流路セルを用いることで、マイクロ流路内でバイオ燃料電池を直列化することに成功した。様々な条件下での安

定した溶液の分断や、より多くのバイオ燃料電池の直列化を行うためには、フルオロカーボンなど化学的な疎水性の強い材料を用いることや、流路のデザインを洗練させることが必要だと考えている。

4. まとめ

本研究では RIE などの微細加工技術による疎水性の微小突起アレイ（突起高さ: $20 \mu\text{m}$, 突起直径: $15 \mu\text{m}$, 突起間距離: $15 \mu\text{m}$ ）の作製法を確立し、その表面が $\theta_c > 150^\circ$ の高い撥水性、いわゆる超撥水性を示すことを実証した。この超撥水表面はマイクロ流路中において空気バルブとして繰り返し作動することが確認できた。また、その動作に伴いセル間の溶液が分断されることで直列配線したマイクロバイオ燃料電池が直列化され、出力電圧がステップ的に上昇することを認めた。今回は最大電圧の推移のみを観測したが、今後は様々な作動環境下における直列型バイオ燃料電池の性能について評価していく予定である。なお今回は PDMS 流路とガラス基板からセルを構成したが、容易に使い捨て可能な電源とするために、すべてプラスチックで作製することも検討している。その際、今回確立した作製手法をそのまま応用することで作製できると考えている。また今回報告したマイクロ流路中における溶液分離法は、バイオ燃料電池への利用以外にも、特にマイクロ化学チップの分野への応用が大いに期待されるものである。

謝 辞

この研究は東北大学グローバル C O E 「新世紀世界の成長焦点に築くナノ医工学拠点」の支援のもと行われました。

文 献

- [1] Heller A. Integrated medical feedback systems for drug delivery. *Aiche J* **51**, 1054-1066, 2005.
- [2] Heller A. Miniature biofuel cells. *Phys Chem Chem Phys* **6**, 209-216, 2004.
- [3] Barton SC, Gallaway J, and Atanassov P. Enzymatic biofuel cells for implantable and microscale devices. *Chem Rev* **104**, 4867-4886, 2004.
- [4] Tsujimura S, Kano K, and Ikeda T. Glucose/ O_2 biofuel cell operating at physiological conditions. *Electrochemistry* **70**, 940-942, 2002.

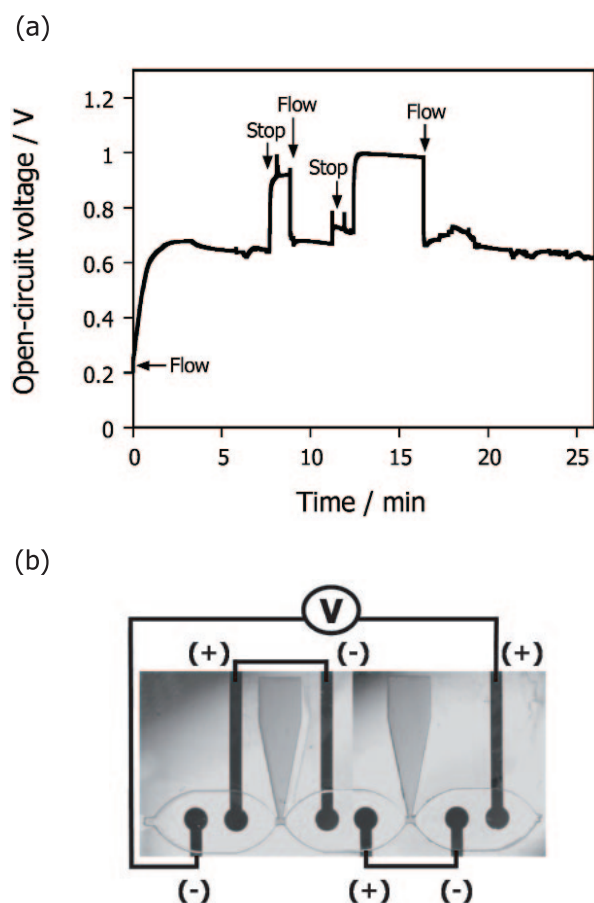


図 8 . (a) The time course of the open-circuit voltage (OCV) measured between the two ends of the electrode circuit during the charge and recharge of a 0.1 M NaCl and $0.1 \text{ M glucose-containing } 50 \text{ mM phosphate buffer solution (pH 7)}$. (b) A photograph of the glass substrate showing the channel, superhydrophobic gates, and three sets of anode/cathodes connected in series during the OCV measurements.

- [5] Kamitaka Y, Tsujimura S, Setoyama N, Kajino T, and Kano K. Fructose/dioxygen biofuel cell based on direct electron transfer-type bioelectrocatalysis. *Phys Chem Chem Phys* **9**, 1793-1801, 2007.
- [6] Arechederra RL, Treu BL, and Minter SD. Development of glycerol/O₂ biofuel cell. *J Power Sources* **173**, 156-161, 2007.
- [7] Moore CM, Minter SD, and Martin RS. Microchip-based ethanol/oxygen biofuel cell. *Lab Chip* **5**, 218-225, 2005.
- [8] Lim KG and Palmore GTR. Microfluidic biofuel cells: The influence of electrode diffusion layer on performance. *Biosens. Bioelectron* **22**, 941-947, 2007.
- [9] Palmore GTR, Bertschy H, Bergens SH, and Whitesides GM. A methanol/dioxygen biofuel cell that uses NAD⁺-dependent dehydrogenases as catalysts: application of an electro-enzymatic method to regenerate nicotinamide adenine dinucleotide at low overpotentials. *J Electroanal Chem* **443**, 155-161, 1998.
- [10] Gallaway J, Wheeldon I, Rincon R, Atanassov P, Banta S, and Barton SC. Oxygen-reducing enzyme cathodes produced from SLAC, a small laccase from *Streptomyces coelicolor*. *Biosens Bioelectron* **23**, 1229-1235, 2008.
- [11] Barton SC, Sun YH, Chandra B, White S, and Hone J. Mediated enzyme electrodes with combined micro- and nanoscale supports. *Electrochem Solid State Lett* **10**, B96-B100, 2007.
- [12] Tominaga M, Otani M, Kishikawa M, and Taniguchi I. UV-ozone treatments improved carbon black surface for direct electron-transfer reactions with bilirubin oxidase under aerobic conditions. *Chem Lett* **35**, 1174-1175, 2006.
- [13] Kakehi N, Yamazaki T, Tsugawa W, and Sode K. A novel wireless glucose sensor employing direct electron transfer principle based enzyme fuel cell. *Biosens Bioelectron* **22**, 2250-2255, 2007.
- [14] Tamaki T and Yamaguchi T. High-surface-area three-dimensional biofuel cell electrode using redox-polymer-grafted carbon. *Ind Eng Chem Res* **45**, 3050-3058, 2006.
- [15] Sato F, Togo M, Islam MK, Matsue T, Kosuge J, Fukasaku N, Kurosawa S, and Nishizawa M. Enzyme-based glucose fuel cell using Vitamin K₃-immobilized polymer as an electron mediator. *Electrochem Commun* **7**, 643-647, 2005.
- [16] Togo M, Takamura A, Asai T, Kaji H, and Nishizawa M. An enzyme-based microfluidic biofuel cell using vitamin K₃-mediated glucose oxidation. *Electrochim Acta* **52**, 4669-4674, 2007.
- [17] Togo M, Takamura A, Asai T, Kaji H, and Nishizawa M. Structural studies of enzyme-based microfluidic biofuel cells. *J Power Sources* **178**, 53-58, 2008.
- [18] Furukawa Y, Moriuchi T, and Morishima K. Design principle and prototyping of a direct photosynthetic/metabolic biofuel cell (DPMFC). *J Micromech Microeng* **16**, S220-S225, 2006.
- [19] Chiao M, Lam KB, and Lin LW. Micromachined microbial and photosynthetic fuel cells. *J Micromech Microeng* **16**, 2547-2553, 2006.
- [20] Wenzel RN. Resistance of solid surfaces to wetting by water. *Ind Eng Chem* **28**, 988-994, 1936.
- [21] Li XM, Reinhoudt D, and Crego-Calama M. What do we need for a superhydrophobic surface? A review on the recent progress in the preparation of superhydrophobic surfaces. *Chem Soc Rev* **36**, 1350-1368, 2007.
- [22] Hosono E, Fujihara S, Honma I, and Zhou HS. Superhydrophobic perpendicular nanopin film by the bottom-up process. *J Am Chem Soc* **127**, 13458-13459, 2005.
- [23] Zhang L, Zhou ZL, Cheng B, DeSimone JM, and Samulski ET. Superhydrophobic behavior of a perfluoropolyether lotus-leaf-like topography. *Langmuir* **22**, 8576-8580, 2006.
- [24] Feng XJ and Jiang L. Design and creation of superwetting/antiwetting surfaces. *Adv Mater* **18**, 3063-3078, 2006.
- [25] Sun M, Luo C, Xu L, Ji H, Ouyang Q, Yu D, and Chen Y. Artificial Lotus Leaf by Nanocasting. *Langmuir* **21**, 8978-8981, 2005.
- [26] Cassie ABD and Baxter S. Wettability of porous surfaces. *Trans. Faraday Soc* **40**, 0546-0550, 1944.
- [27] Li XH, Abe T, and Esashi M. Deep reactive ion etching of Pyrex glass using SF₆ plasma. *Sens Actuator A-Phys* **87**, 139-145, 2001.
- [28] Extrand CW and Kumagai Y. Contact Angles and Hysteresis on Soft Surfaces. *Journal of Colloid and Interface Science* **184**, 191-200, 1996.